

Kutatási jelentés

A kutatást 4 éves időtartamra terveztük. A kutatás célja volt a króm(III) komplexek vizsgálata talaj-növény rendszerben. A kutatás kitűzött két legfontosabb cél a talajok antropogén króm(III) tartalmának meghatározása, valamint emelt krómtartalmú élelmiszer alapanyagok előállítása és új mérési módszerek kidolgozása volt. Az elért eredmények közül a legfontosabbak a következők:

1. Kidolgoztuk különböző krómkomplexek előállításának módját, a króm-pikolinát szerkezetét röntgendiffrakciós módszerrel meghatároztuk, és az eredmények felhasználásával étrendkiegészítő készítményt fejlesztettünk belőle, amelyet 2007-ben forgalomba hoztak.
2. Meghatároztuk a komplexek képződési sebességét talajban, és a különböző komplexek adszorpciós izotermáit több talajtípusra.
3. Új módszert dolgoztunk ki, alkalmaztunk és értékeltünk talajok antropogén krómtartalmának megállapításához. A kidolgozott normalizációs eljárást vizsgáltuk a Talaj Információs és Monitoring Rendszer általunk is lemért mintáira, a tiszai árterek krómszennyezésének értékelésére. Igazoltuk, hogy a módszer érzékenyebb a hagyományos eljárásoknál, segítségével azonosítottunk eddig ismeretlen szennyezőforrásokat. Igazoltuk, hogy a Tisza árterén a kadmium, ólom és cink mellett a bányákból származó krómszennyezés is kimutatható.
4. Mérési módszereket dolgoztunk ki és vizsgáltunk a krómkomplexek meghatározására. A gél-elektroforézis-ICPMS on-line összekapcsolásával valamint az ionkromatográf-ICPOES kapcsolt rendszerrel elindítottuk a krómkomplexek valós mintákból történő meghatározását.
5. Új eljárást dolgoztunk ki és szabadalmaztattunk a krómkomplexek gyümölcsökbe juttatására. A létrehozott fainfúziós eljárás alkalmazásával kísérleteket végeztünk és végzünk emelt krómtartalmú gyümölcsök előállítására.
6. Új eljárást dolgoztunk ki emelt krómtartalmú zöldségek előállítására. A technológia szabadalmaztatásához hozzákezdünk. Pályázatok készültek a termékek fejlesztésére.

A kutatás eredményeként lehetővé vált emelt krómtartalmú élelmiszer alapanyagok (zöldségek, gyümölcsök) előállítása. A kidolgozott mérési módszerek és értékelési eljárások a króm talaj-növény rendszerben történő viselkedésének megértéséhez jelentősen hozzájárultak.

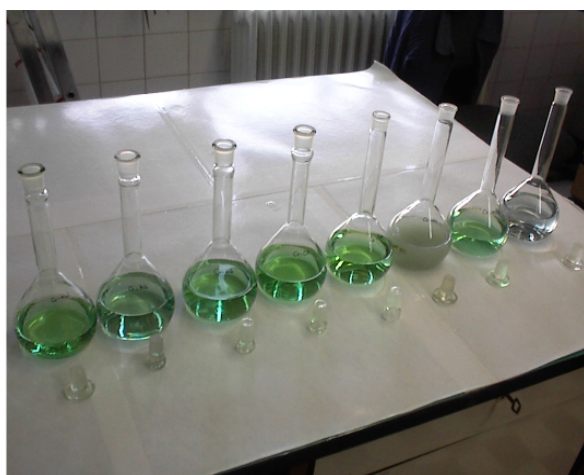
Eljárás kidolgozása Cr(III)-komplexek előállítására.

Tíz komplexből terveztünk standardek előállítását. Ezek a következők:

Ligandum (rövidítés)	Szerkezeti képlet	Molekula- tömeg [g·mol ⁻¹]	Oldhatóság 20°C-on [g·100 ml ⁻¹]	pH [-]	Cr(III)- komplex színe
Aszkorbinsav (asz)		176,13	33 ^a	3 ^c	zöld
Citromsav (cit)		192,13	133	1,7 ^d	szürkés kék
Etilén- diamin- tetraecetsav (edte)		292,24	-	-	sötét lila
Hisztidin (his)		155,16	3,82	7,7 ^d	szürkés rózsaszín
Malonsav (mal)		104,06	7,35	-	világoskék
Nikotinsav (nik)		123,11	1,8 ^b	-	világoskék
Oxálsav (oxa)		126,07	10,2	0,7 ^d	halvány lila
Pikolinsav (pik)		123,11	88,7	-	rózsaszín

^a 24°C-ra vonatkozó adat, ^b 25°C-ra vonatkozó adat, ^c 50 g·l⁻¹ ionmentesített vízben 20°C-on, ^d 100 g·l⁻¹ ionmentesített vízben 20°C-on

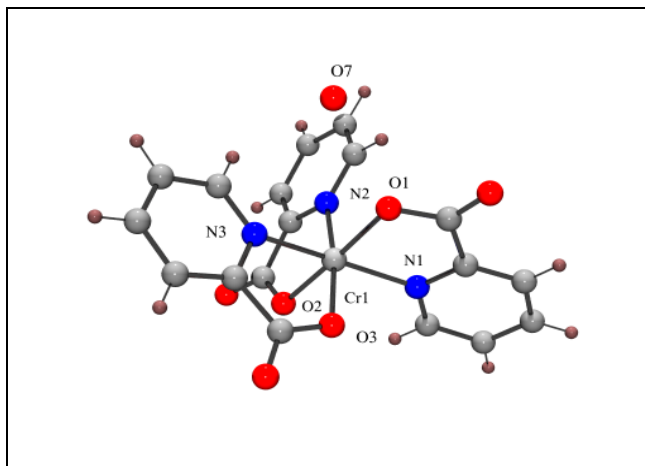
A különböző Cr(III)-komplexek képződését kísérő színváltozás:



A komplexeket kristályos formában állítjuk elő, majd standard oldatokat készítettünk belőlük a további vizsgálatokhoz. A Cr(III)-komplexek UV/VIS spektrumának felvétele után

módszert dolgoztunk ki az ionkromatográfiás (HPLC) szétválasztáshoz. A HPLC-s szétválasztásban anion és kationcserélő oszlopot, krómszelektív detektorként az ICPOES készüléket használtunk.

Figyelembe véve a gyakorlat igényeit megoldottuk a preparatív célú króm-pikolinát gyártást, a Debreceni Egyetemen Dr. Bényei Attila megvizsgálta röntgendiffrakciós módszerrel az előállított kristályok szerkezetét, és azonosítottuk az előállított komplexet.



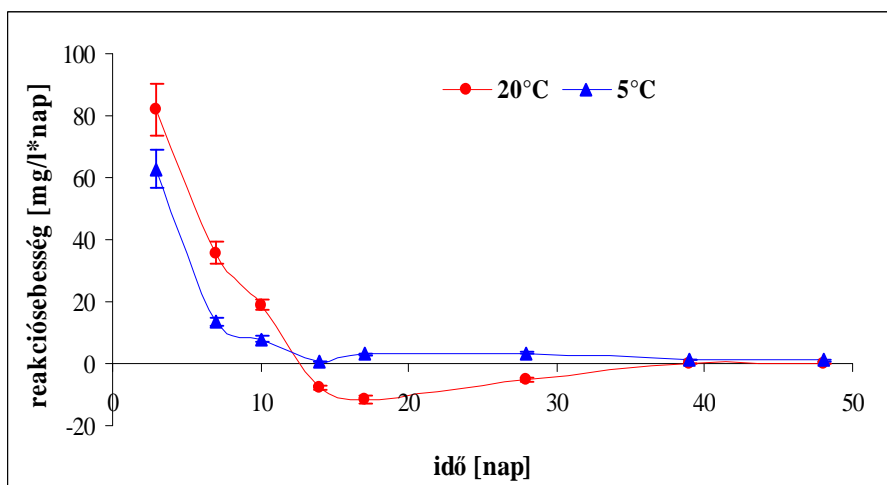
Az általunk előállított Cr(III)-pikolinát röntgendiffrakciós szerkezete a Debreceni Egyetem Természettudományi Kar Fizikai Kémiai Tanszéke Bényei (2004) nyomán

Az eredmények felhasználásával krómtartalmú étrendkiegészítő készítményt fejlesztettünk, amelyet 2007-ben forgalomba hoztak (http://www.lizin.hu/hun/hun_termek_KROMINULIN.html):



2. A komplexek képződési sebessége talajban, és a különböző komplexek adszorpció izotermái több talajtípusra.

A Cr(III)-komplexek kinetikai inertsége miatt a Cr(III)-pikolinát nem képződik pillanatszerűen szobahőmérsékleten, ezért célunk volt a képződési sebesség meghatározása vizes oldatban és talajban, két különböző hőmérsékleten (20°C-on és 5°C-on). A vizes közegben lejátszódó komplexképződési reakciót spektrofotométeren követtük nyomon, az oldatok 350-700 nm közötti hullámhossz tartományban való teljes spektrumának felvételével. Cr(III)-pikolinát talajban történő képződését humuszos homok-, típusos réti- és kilúgzott csernozjom talajokban vizsgáltuk. A Cr(III)-pikolinát koncentrációjának növekedése a szobahőmérsékleten tartott oldatokban tíz napig tart, majd a komplex szerkezetének átalakulása miatt csökkenni kezd, a 28. naptól nem változik tovább. A +5°C-on tárolt mintákban a Cr(III)-pikolinát koncentrációja a vizsgált időintervallumban egyenletesen növekszik. A Cr(III)-pikolinát képződési sebességét a különböző hőmérsékletű oldatokban mért koncentrációértékek alapján számítottuk ki, amelynek időbeli változását a következő ábra mutatja be.



A króm-pikolinát képződésének kinetikáját megvizsgáltuk talajban is, s az alábbi eredményeket kaptuk:

A Cr(III)-pikolinát különböző talajokban és különböző hőmérsékleten történő képződésének reakciókinetikai adatai

Talajtípus	n		k [nap ⁻¹]		t _{1/2} [nap]	
	20°C	5°C	20°C	5°C	20°C	5°C
Humuszos homoktalaj	2,3	2,2	0,03	0,03	33	167
Kilúgzott csernozjom talaj	2,7	2,1	0,10	0,18	77	185
Típusos réti talaj	3,2	3,0	0,13	0,23	135	228

A Cr(III)-pikolinát képződése a vizsgált talajokban általában másodrendű kinetikai modell szerint megy végbe, leggyorsabban a humuszos homoktalajon játszódik le. A humuszos homoktalajtól a típusos réti talajig a humusztartalom és a kémhatás növekszik, amely a Cr³⁺-ionok adszorpciójának és kicsapódásának kedvez, ezért csökken annak oldatbeli koncentrációja, csökken a Cr(III)-pikolinát képződésének sebessége. A típusos réti talajban mért rendkívül kis koncentráció értékek és az ezekből számított nagyobb rendűség, sebességi állandó és felezési idő értékek a Cr(OH)₃ csapadék megjelenését bizonyítják. A különböző hőmérsékleten, ugyanazon talajban meghatározott reakciósebességi állandók azonos

nagyságrendűek, a felezési idők kisebb hőmérsékleten a humuszos homoktalajban ötször, a kilúgzott csernozjom talajban közel két és félszer, a típusos réti talajban majdnem kétszer nagyobbak, mint a szobahőmérsékleten számított értékek.

A növények számára felvehető ionok legnagyobb részét a talaj által adszorpciós úton megkötött ionok képezik. A talaj adszorbeáló képességét és a különböző anyagok adszorpciós affinitását adszorpciós izotermákkal lehet jellemezni. A Cr(III)-pikolinát adszorpciós izotermáját négy eltérő talajtípuson (humuszos homok-, típusos réti-, kilúgzott csernozjom és réti szolonyec talajon) határoztuk meg. A hét különböző ligandummal (aszorbinsav, citromsav, etilén-diamin-tetraecetsav, hisztidin, malonsav, nikotinsav, oxálsav) képzett Cr(III)-komplex adszorpciós izotermáit ugyanazon a talajtípuson (kilúgzott csernozjom talajon) vizsgáltuk. Az adszorpciós izotermák felvételéhez talajonként tíz pontot vettünk fel, amelyekre Langmuir-izotermát illesztettünk. A linearizált egyenletben szereplő meredekség és tengelymetszet ismeretében kiszámítottuk a kísérletben alkalmazott talajok maximális adszorpciós kapacitását az adott komplexre, valamint a Langmuir-állandó értékét.

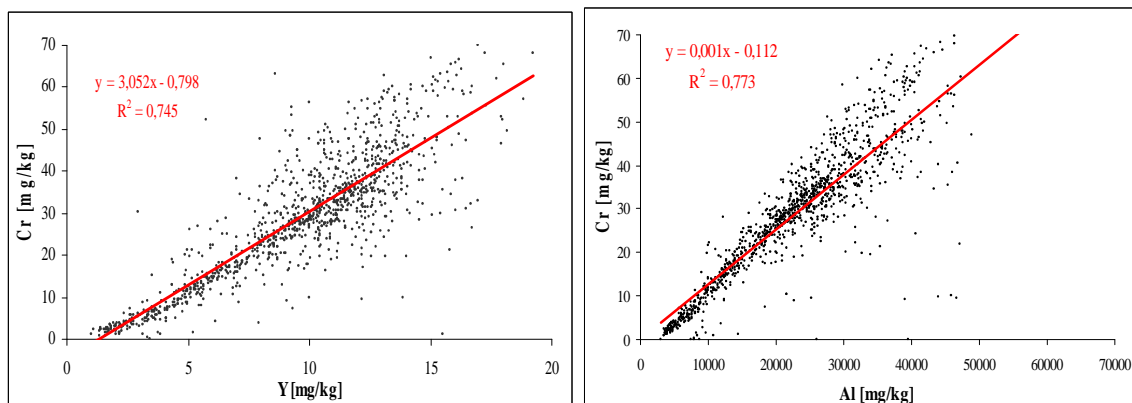
A Cr(III)-komplexek kilúgzott csernozjom talajon meghatározott adszorpciós izotermáinak számított értékei és a regressziós együtthatók

Komplex neve	m	b	Q [mg·kg ⁻¹]	k _L [mg·kg ⁻¹]	R ²
Cr(III)-nitrát (Cr-nit)	0,002	0,016	63,3	0,09	0,986
Cr(III)-klorid (Cr-klo) ^a	0,003	0,003	357	1,00	0,996
Cr(III)-nikotínát (Cr-nik) ^a	0,008	0,020	50,5	0,42	0,885
Cr(III)-hisztidinát (Cr-his)	0,005	0,029	34,4	0,15	0,947
Cr(III)-aszorbínát (Cr-asz)	0,034	0,009	116	3,93	0,999
Cr(III)-malonát (Cr-mal)	0,146	0,038	26,2	3,84	0,909
Cr(III)-oxalát (Cr-oxa)	0,442	0,092	10,8	4,79	0,846
Cr(III)-citrát (Cr-cit)	0,247	0,065	15,3	3,78	0,908
Cr(III)-etilén-diamin-tetraacetát (Cr-edte) ^b	2,15	0,049	20,5	44,1	0,951

A kilúgzott csernozjom talaj által maximálisan megkötött króm mennyisége a szervesetlen Cr(III)-klorid esetében adódott a legnagyobb értéknek, ezzel azonos nagyságrendű érték a Cr(III)-aszorbátnál mutatkozott. A Cr(III)-oxalát, Cr(III)-citrát, Cr(III)-etilén-diamin-tetraacetát, Cr(III)-malonát, Cr(III)-hisztidinát szerves komplexeknél a savi jelleg gyengülésével csökken az oldatban lévő Cr(III)-ionok mennyisége, ezért a talaj adszorpciós komplexumán egyre nagyobb mennyiség kötődik meg. A Cr(III)-citrát és a Cr(III)-oxalát adszorpciós kapacitása hasonló a Cr(III)-pikolinátra megállapított értékkel, amelyet a korábbi kísérletben, ugyanezen a talajon határoztunk meg. A szerves Cr(III)-pikolinához képest a szervesetlen Cr(III)-kloridból harmincszor, a Cr(III)-nitrátból ötször nagyobb mennyiséget képes megkötni a kilúgzott csernozjom talajon, ezért a talajoldatban a szervesetlen Cr(III)-vegyületekből harmincszor, illetve ötször kevesebb van jelen. A Cr(III)-pikolinát adszorpciós kapacitását összehasonlítva a többi szerves Cr(III)-vegyülettel láthatjuk, hogy azonos nagyságrendű értékek adódtak, a komplexképző ligandumtól függően, többnyire kétszer (Cr-mal, Cr-edte), háromszor (Cr-his), vagy négyszer (Cr-nik) nagyobb értékek adódnak.

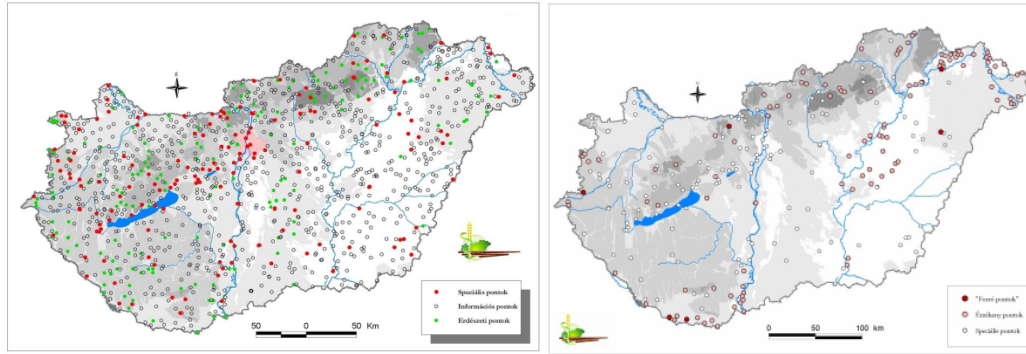
3. Új módszert dolgoztunk ki, alkalmaztunk és értékeltünk talajok antropogén krómtartalmának megállapításához. A kidolgozott normalizációs eljárást vizsgáltuk a Talaj Információs és Monitoring Rendszer általunk is lemért mintáira, a tiszai árterek krómszennyezésének értékelésére. Igazoltuk, hogy a módszer érzékenyebb a hagyományos eljárásoknál, segítségével azonosítottunk eddig ismeretlen szennyezőforrásokat. Igazoltuk, hogy a Tisza árterén a kadmium, ólom és cink mellett a bányákból származó krómszennyezés is kimutatható.

A normalizációs módszert PROKISCH et al. (2001) szerint a TIM adatbázisban szereplő északkeleti régió (4 megye) rétegmintáira (1202 db), valamint az egész ország területéről származó talajok felső szintjeinek (1236 db) mintáira alkalmaztuk. Az eljárás lényege, hogy az ittrium vagy alumínium és a króm adott talajra érvényes korrelációs egyenesétől mért eltérést tekintjük a króm antropogén eredetű mennyiségének, amellyel a hagyományos módszerekhez képest egy-két nagyságrenddel kisebb antropogén hatás mutatható ki a talajok krómtartalmában.



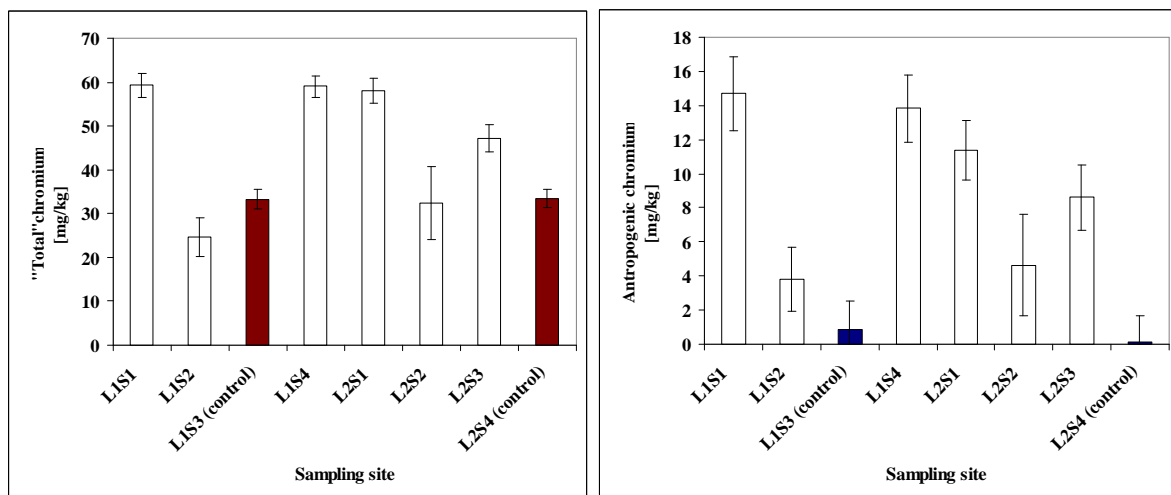
: Az ittrium-króm és az alumínium-króm közötti összefüggések az északkeleti régióból származó talajokban (TIM)

Az illesztett egyenesek egyenletei alapján a méréssel megállapított ittrium vagy alumínium koncentráció ismeretében a vizsgált talaj geogén eredetű krómkoncentrációja jó közelítéssel kiszámítható. A normalizációs módszerekkel kimutatható legkisebb szennyezés $15-20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, amely nem független a koncentrációtól, kisebb ittrium-, vagy alumíniumtartalmú (homok) talajokon $5-10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ -ra csökken. Hazánk északkeleti régiójára alkalmazott kétféle normalizációs módszert Magyarország teljes területére kiterjesztettük, oly módon, hogy az egész ország területéről származó TIM talajminták felső rétegeiben megvizsgáltuk a króm-ittrium és a króm-alumínium közötti összefüggéseket. Azokat a TIM mintavételi helyeket, amelyeknél a kétféle normalizációs eljárással megállapított nem természetes eredetű króm mennyiségének mértani közepe nagyobb mint $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, „forró pontok”-nak nevezhetjük. Az ország területén hat talajszelvény esetében találtunk jelentősebb antropogén krómszennyezést. Ezeken a helyeken minden esetben azonosítható volt a szennyezőforrás, emellett jellemző volt, hogy a vizsgált talajok folyó vagy patak árterén voltak. Az áradó folyó üledéke hordozta a krómszennyezést, amelynek kiöntései révén megnövekedett a talaj krómtartalma. A szennyező forrás általában a folyó melletti fatelep volt.



A TIM mintavételi pontok és a normalizációs módszerekkel kijelölt pontok elhelyezkedése Magyarország területén a „forró pontok” esetén valamennyi esetben sikerült megtalálni a szennyező forrást

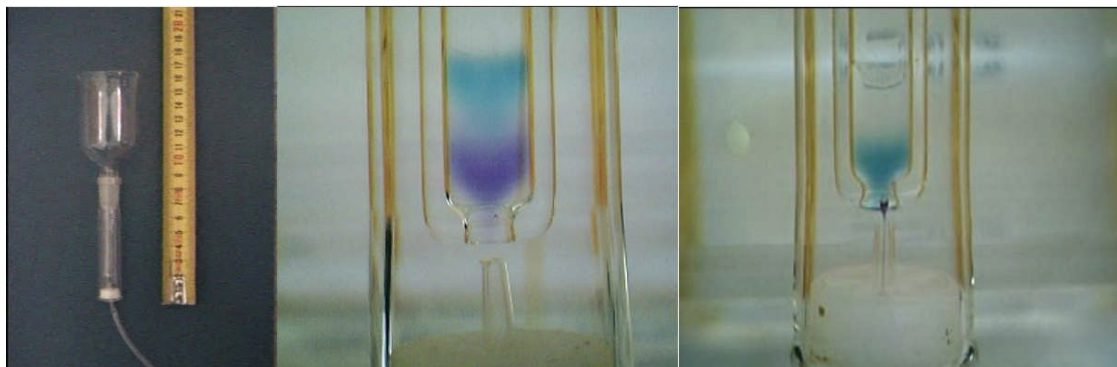
A kidolgozott módszert alkalmaztuk a Tisza árterének vizsgálatában. Domy Adriano professzorral (University of Georgia, Savannah River Ecology Laboratory, Drawer E Aiken (U.S.)), Németh Tamás akadémikussal (MTA TAKI) és Prof. Győri Zoltánnal együttesen végzett mintavétel és vizsgálatok eredményeit értékeltük a módszerrel és megállapítottuk, hogy amíg a hagyományos módszerrel nem, addig a normalizációs eljárással egyértelműen bizonyítható a szennyezésből származó króm jelenléte az ártéren:



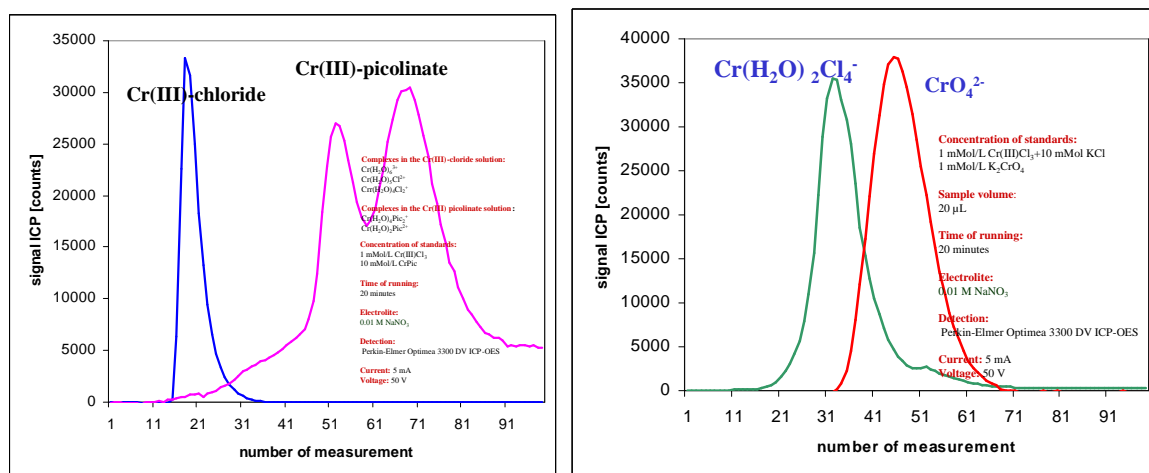
A hagyományos értékelés és a normalizációs eljárás összehasonlítása szemléletesen mutatja a kidolgozott módszer előnyét a krómszennyezés értékelésében.

4. A gél-elektroforézis-ICPMS on-line összekapcsolása krómkomplexek valós mintákból történő meghatározásához.

Elektroforézis cellát terveztünk és építettünk a gélelektroforézis és az ICPMS készülék összekapcsolásához, amelynek működését festékekkel szemléltettük:



A krómkomplexek elválasztásában az alábbi kromatogramokat kaptuk:



A módszer egyelőre a viszonylag kedvezőtlen kimutatási határok (10-50 ppb) és a költséges mérés technika (ICPMS) miatt megítélésünk szerint további fejlesztésre szorul.

5. Új eljárást dolgoztunk ki és szabadalmaztattunk a krómkomplexek gyümölcsökbe juttatására. A létrehozott fainfúziós eljárás alkalmazásával kísérleteket végeztünk és végzünk emelt krómtartalmú gyümölcsök előállítására.

A találmányunk címe: Prokisch J., Fári M., Kovács B., Győri Z.: Magas biológiai értékű gyümölcsök és eljárás előállításukra, P0501073 Magyar Szabadalmi Hivatal, 2005

Az emelt antioxidáns és krómtartalmú gyümölcs frissen vagy konzervált formában alkalmas funkcionális élelmiszer- és gyógyszeralapanyagnak.

A fák törzsébe történő növényvédőszer bejuttatására korábban is használtak és szabadalmaztak különböző injektáló eszközöket. A találmány kidolgozásánál kitűzött feladat olyan technológia kidolgozása volt, amellyel gyümölcsök antioxidáns, polifenol, vitamin, mikroelem(króm), aminosav tartalmának szabályozott és tervezett növelése egyszerűen megvalósítható.

Felismertük, hogy ezen cél megvalósítható oly módon, hogy gyümölcsfa törzsén, ágán vagy a bogyós gyümölcs (szőlő, áfonya) tőketörzsének fás szárán megfelelő méretű lyukat készítünk, amelybe (menetes) csatlakozó beillesztésével folyadék bevezetésére alkalmas csatlakozási helyet alakítunk ki. A csatlakozási helyhez csatlakoztatott csővezetéken keresztül a kívánt antioxidáns oldatát vagy a keletkezését elősegítő oldatot vezetünk be a törzsbe, amely a xylem áramlási rendszerén keresztül eljut a levelekig, majd a termésig.

Egy gyümölcsfa 12 cm átmérőjű ágába épített 2 cm átmérőjű csatlakozó működés közben:



A fába juttatott festékanyag a hatóanyagok szállításának modellezésére, valamint a legújabb csatlakozórendszer:



Egy 2 cm átmérőjű csatlakozó és 4 cm mély 2 lyuk esetén hetente több mint 1 liter folyadék áramlik a fa törzsébe. Egy kisebb átmérőjű, 0,5 cm-es 2 lyukat alkalmazva (pl. szőlőtőkén) heti 50-200 ml 5 oldat juttatható be a növénybe. A 3 csatlakozó a 4 csatlakozócsövön keresztül egy 6 csappal ellátott 0,5-10 literes 7 tartályhoz kapcsolódik a 2. ábrán bemutatott módon.

A technológia kulcsfontosságú eleme a megfelelő összetételű oldat alkalmazása. Az oldat összetételét az a vegyület határozza meg, amelynek koncentrációját emelni szeretnénk.

A termés betakarítása után a 3 csatlakozó az 1 fás szárban bedugaszolható illetve abból eltávolítható.

A találmányt részletesebben az alábbi példákkal mutatjuk be.

Növény	Beadagolt vizes oldat	Célvegyület	Oldott anyag koncentráció (t %)	Bevezetett oldat térfogat(l)	Kezelés hossza (hét)	A termésben a célvegyület koncentrációja (t %)
meggyfa	Króm-pikolinát	Króm (króm-pikolinátként)	0,001	4	2	0,0004
szilvafa	Króm-pikolinát	Króm (króm-pikolinátként)	0,0002	16	12	0,000048

6. Új eljárást dolgoztunk ki emelt krómtartalmú zöldségek előállítására. A technológia szabadalmaztatásához hozzákezdünk. Pályázatok készültek a termékek fejlesztésére.

A kidolgozott találmány lényege, hogy a zöldségnövények palántázása során a palántázó tálcába a mag alá, a tápközegbe egy tablettát helyezünk. A tablettát, a különleges összetétel miatt, a fejlődő növény gyökerei sűrűn átszövik, így a növény melegházba, vagy szabadföldre történő kiültetésnél az továbbra is a növény gyökerében marad.

A növények a tablettából kapott mikroelemeket olyan szerves kötésű vegyületekben és olyan más hasznos anyagokkal együtt (antioxidánsok, vitaminok) tartalmazzák, amelyek elősegítik azok felszívódását, hasznosulását, növelik egészségvédő és gyógyító funkciójukat is. A tabletták formájú hatóanyagadagolás ötlete az alkalmazott 1 növény – 1 tabletták alapelvvel lehetővé teszi a zöldségek (káposzta, brokkoli, karalábé) összetételének nagy pontosságú tervezését, az adott hatóanyag egy növényre tervezett mennyiségének pontos beállítását.

A zöldségnövények kiválasztásánál a hazai fogyasztás és az előállított palánták számát vettük figyelembe. Elsősorban a káposztafélék (fehér és vörös), a brokkoli, karalábé és paprika azok a zöldségnövények, amelyek a legfontosabbak a hazai termesztésben és fogyasztásban. Az üzemi palántanevelés során a palántákat milliós nagyságrendben állítják elő automatizált gépsorokon. Ezek a gépek alkalmasak a tabletták automatikus adagolására is, így nagy mennyiségben előállítható például az emelt krómtartalmú, cukorbetegeknek, fogyókúrázóknak javasolható vöröskáposzta.

Megfelelő krómkomplexekkel (króm-pikolinát, króm-hisztidinát) a zöldség szerves-krómtartalma beállítható a kívánt szintre.

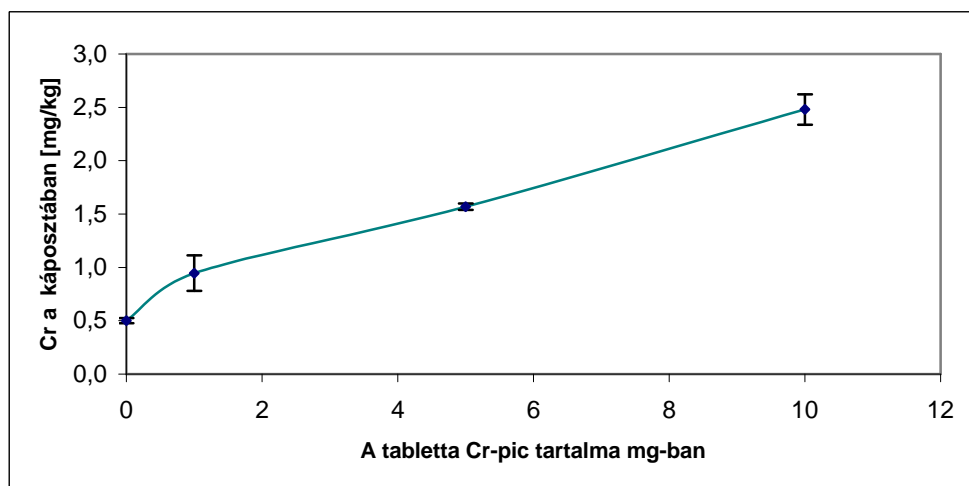
Kísérleteket végeztünk a kisüzemi szintű zöldségtermelésen alkalmazható tablettával. A tablettát

A kísérlethez 1 grammos 0, 1, 2, 5 és 10 mg króm-pikolinátot tartalmazó tablettákra volt szükségünk. A tabletták előállításához citrus-pektin és riolittufa hordozót használtunk, a megfelelő tablettázhatósághoz magnézium sztearátot és talkumot használtunk.

A tabletták szignifikánsan növelték a káposzta krómtartalmát a szabadföldi kisparcellás kísérletben:



A krómtablettával kezelt palánta, a káposzta növény és a gyökér a tabletták környezetében



A tabletta alkalmazásával jelentősen meg tudtuk növelni a káposzta krómtartalmát, ami ilyen módon ígéretes alapanyaga a tervezett funkcionális élelmiszereknek és étrendkiegészítő készítményeknek.

A technológia gyakorlati megvalósítására konzorcium alakult a régó 6 vállalkozása (Denex Kft, Grenex Kft, Aroma Dry Kft, Dr. Aliment Kft, Varga Reformház Kft) és a Debreceni Egyetem együttműködésével. A konzorcium elkészítette a pólus program keretében pályázatát további új termékek létrehozására.